

特 許 協 力 条 約

PCT

特許性に関する国際予備報告 (特許協力条約第二章)

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 04 JAN 2005

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 POKJ-10390	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO3/16523	国際出願日 (日.月.年) 24.12.2003	優先日 (日.月.年) 24.12.2002
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>7</sup> C12P19/28, C08B37/00		
出願人 (氏名又は名称) 梶原 康宏		

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。  
法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 7 ページからなる。

3. この報告には次の附属物件も添付されている。

a ☒ 附属書類は全部で 7 ページである。

☒ 補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)

☐ 第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙

b ☒ 電子媒体は全部で ディスク1枚 (電子媒体の種類、数を示す)。  
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。(実施細則第802号参照)

4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

☒ 第I欄 国際予備審査報告の基礎

☐ 第II欄 優先権

☐ 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

☒ 第IV欄 発明の単一性の欠如

☒ 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明

☒ 第VI欄 ある種の引用文献

☐ 第VII欄 国際出願の不備

☐ 第VIII欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 11.06.2004	国際予備審査報告を作成した日 01.12.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JPO) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 左海 匡子	4N 3038
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2004年1月)

## 第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

☐ この報告は、\_\_\_\_\_語による翻訳文を基礎とした。

それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

☐ PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査

☐ PCT規則12.4にいう国際公開

☐ PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1-93 ページ、出願時に提出されたもの

第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 2-6, 9-11, 14-20 項、出願時に提出されたもの

第 \_\_\_\_\_ 項\*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの

第 1, 7, 8, 12, 13, 21, 22, 24-28 項\*、15.11.2004 付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 \_\_\_\_\_ 項\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

☐ 図面

第 \_\_\_\_\_ ページ/図、出願時に提出されたもの

第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

☒ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☒ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ

☒ 請求の範囲 第 23 項

☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図

☐ 配列表(具体的に記載すること)

☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること)

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ

☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項

☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図

☐ 配列表(具体的に記載すること)

☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること)

\* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第IV欄 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☒ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☐ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☒ 満足する。
- ☐ 以下の理由により満足しない。

15. 11. 2004付けの手續補正書による補正により、請求の範囲1-22及び24-28に共通する事項は「脂溶性の保護基でアスパラギンのアミノ基窒素が保護された、フッ素を含む糖鎖アスパラギン」になった。上記の点は新規なものであるから、請求の範囲1-22及び24-28は単一性を満足する。

4. したがって、国際出願の次の部分について、この報告を作成した。

- ☒ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ に関する部分

## 第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1-22, 24-28	有 無
	請求の範囲		
進歩性 (IS)	請求の範囲		有 無
	請求の範囲	1-22, 24-28	
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-22, 24-28	有 無
	請求の範囲		

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

## 文献1

Haneda K, et al. Transglycosylation of intact sialo complex-type oligosaccharides to the *N*-acetylglucosamine moieties of glycopeptides by *Mucor hiemalis* endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase.

Carbohydrate Research, October 1996, Vol.292, p.61-70

## 文献2

Unverzagt C. Building blocks for glycoproteins: synthesis of the ribonuclease B fragment 21-25 containing an Undecasaccharide N-glycan.

Tetrahedron Letters, August 1997, Vol.38, No.32, p.5627-5630

## 文献3

Unverzagt C. Chemoenzymatic synthesis of a sialylated diantennary N-glycan linked to asparagine.

Carbohydrate Research, December 1997, Vol.305, p.423-431

## 文献4

梶原康宏他, アスパラギンに結合した2分岐複合型糖鎖誘導体の合成とNMRによる構造解析, 第22回日本糖質学会年会要旨集, 2001.07.02, p.33

## 文献5

Lin CH, et al. Enzymatic synthesis of a sialyl Lewis X dimer from egg yolk as an inhibitor of E-selectin.

Bioorganic and Medicinal Chemistry, December 1995, Vol.3, No.12, p.1625-1630

## 文献6

Inazu T, et al. Preparation of Fmoc-asparagine derivatives having natural *N*-linked oligosaccharide, and its application to the synthesis of glycopeptides.

Peptide Science, 1999, Vol.1998, p.153-156

## 文献7

J P 2000-169503 A (生化学工業株式会社) 2000.06.20, p.24-32

## 文献8

U S 5908766 A (Japan Tobacco Inc.) 1999.06.01

## 文献9

J P 08-9989 A (明治乳業株式会社) 1996.01.16

## 文献10

J P 2002-45196 A (東洋紡績株式会社) 2002.02.12  
(ファミリーなし)

第VI欄 ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO 03/008431 A1 「E X」	30. 01. 2003	19. 06. 2002	19. 06. 2001

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--

配列表に関する補充欄

第 I 欄 2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。

- a. タイプ ☒ 配列表  
☐ 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット ☐ 書面  
☒ コンピュータ読み取り可能な形式
- c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる  
☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された  
☐ 出願後に、調査又は予備審査のために、この国際機関に提出された  
☐ \_\_\_\_\_ 付けで、この国際予備審査機関が補正\*として受理した

2. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

\*第 I 欄 4. に該当する場合、差替える配列表又は配列表に関連するテーブルに "superseded" と記入されることがある。

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

文献 1 1

社団法人日本生化学会編，新生化学実験講座（第 3 巻）糖質 I 糖タンパク質（上），東京化学同人，1990.05.21，p.312-349

請求の範囲 1-22，24-28 は文献 1-11 より進歩性を有しない。

文献 1-5 には、Fmoc を有する又は有さない糖鎖アスパラギンが記載されている。

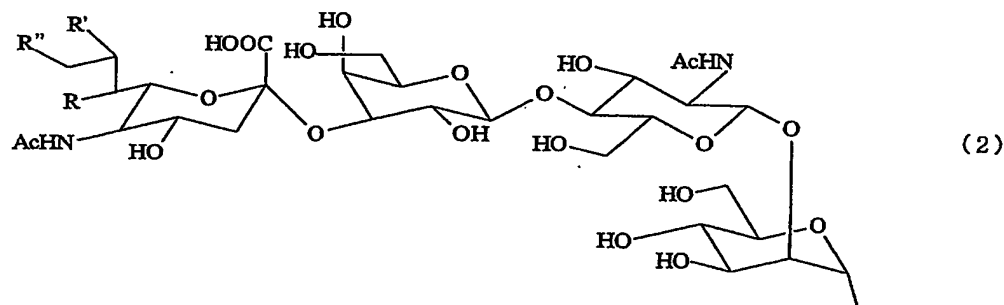
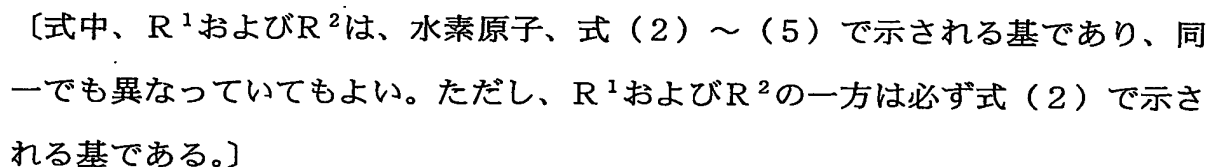
文献 1，6 には、Fmoc を有する糖鎖アスパラギン誘導体をクロマトグラフィーを用いて精製することが記載されている。これを文献 1-5 記載の発明に適用することに格別の困難性は認められない。

また、シアル酸等の糖鎖にフッ素を導入する手法、及び、フッ素を導入したシアル酸がシアリダーゼ阻害活性等の生理活性を有することは、本願出願前に広く知られている（要すれば、文献 7、国際公開第 95/32955 号パンフレット、国際公開第 98/11083 号パンフレット、特開平 1-287029 号公報等参照）ことから、文献 1-5 に記載された発明の糖鎖アスパラギンにおいても、シアル酸の部位にフッ素を導入してみることは、当業者が容易に想到し得ることである。

さらに、文献 8-11 には、シアル酸転移酵素、ガラクトース加水分解酵素、マンノース加水分解酵素又は N-アセチルグルコサミン加水分解酵素等のエキソグリコシダーゼにより、糖鎖を加水分解して種々の糖鎖を製造することが記載されている。さらに、文献 5 には、フコースを、糖鎖アスパラギンの N-アセチルグルコサミンに転移することが記載されている。

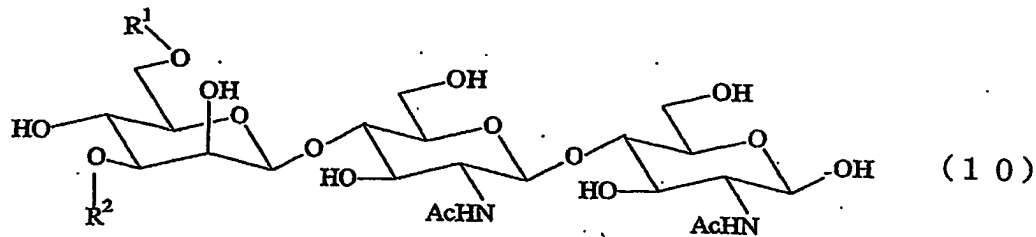
出願人は、答弁書において、糖鎖にフッ素を導入することにより、シアリダーゼに対する耐性が向上し、糖鎖誘導体が分解されなくなったことを主張しているが、フッ素を導入したシアル酸がシアリダーゼ阻害活性を有することが本出願優先日前に広く知られていることから、上記の効果は予想し得ない程度に顕著なものとは認められない。

5



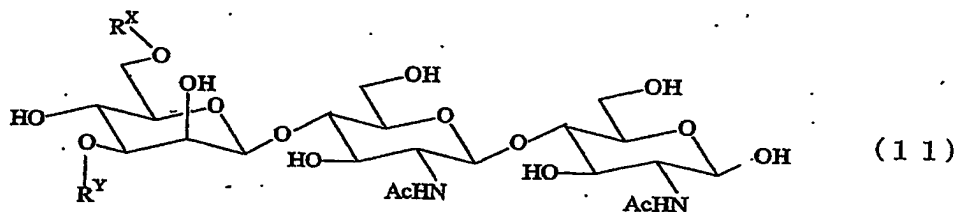
(c)  $R=OH$ ,  $R'=OH$ ,  $R''=F$





〔式中、 $R^1$ および $R^2$ は上記に同じ。〕

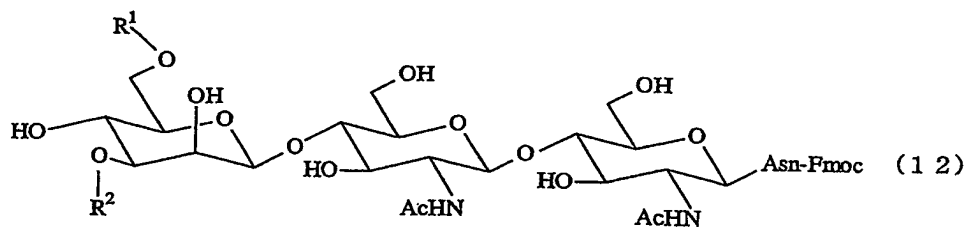
6. 下記式(11)で表されるフッ素を含む11~7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖。



5 〔式中、 $R^X$ および $R^Y$ は上記に同じ。〕

7. (補正後)脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンにシアル酸転移酵素を用いてシアル酸あるいはシアル酸の誘導体を転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする下記式(12)で表される11糖を有する $\alpha$ 2,3ジシアロ

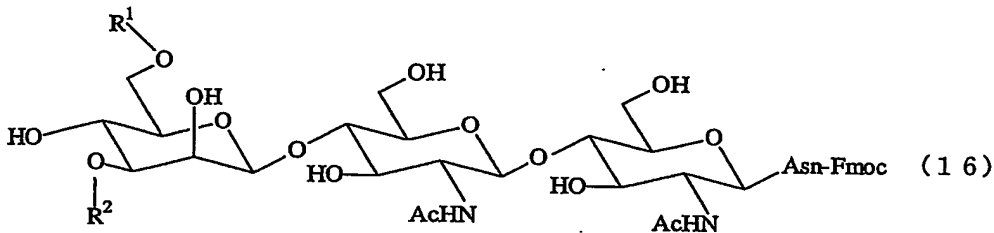
10 糖鎖アスパラギン誘導体の製造法。



〔式中、 $R^1$ および $R^2$ は、共に式(2)で示される基である。〕

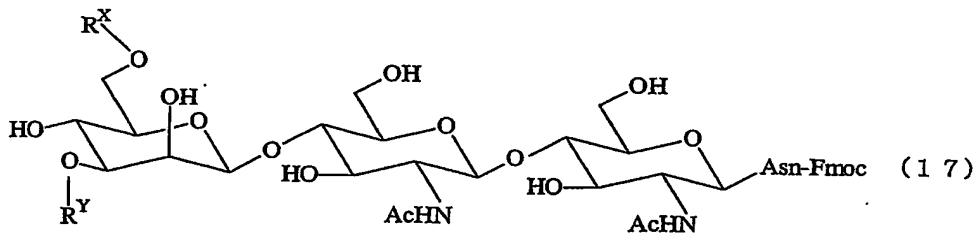
8. (補正後)脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンにシアル酸転移酵素を用いてシアル酸あるいはシアル酸の誘導体を転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする下記式(13)で表される10糖を有する $\alpha$ 2,3モノシアロ糖鎖アスパラギン誘導体の製造法。

加水分解酵素を用いて加水分解することを特徴とする下記式（16）で表される7糖を有する $\alpha$ 2,3モノシアロ糖鎖アスパラギン誘導体の製造法。



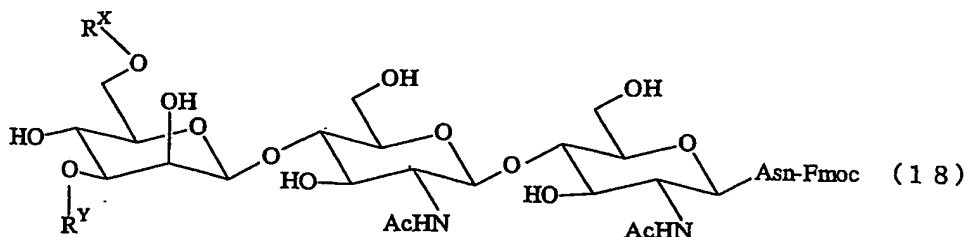
〔式中、 $R^1$ 、 $R^2$ の一方は式（2）で示される基、他方は水素原子である。〕

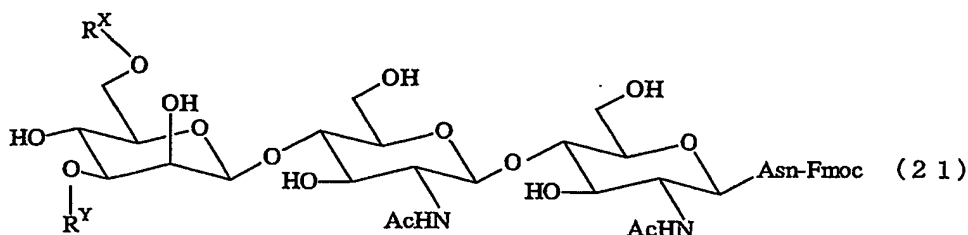
- 5 12.（補正後）脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンにシアル酸転移酵素を用いてシアル酸あるいはシアル酸の誘導体を転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする下記式（17）で表される11糖を有する $\alpha$ 2,6ジシアロ糖鎖アスパラギン誘導体の製造法。



〔式中、 $R^X$ および $R^Y$ は、共に式（7）で示される基である。〕

- 10 13.（補正後）脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンにシアル酸転移酵素を用いてシアル酸あるいはシアル酸の誘導体を転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする下記式（18）で表される10糖を有する $\alpha$ 2,6モノシアロ糖鎖アスパラギン誘導体の製造法。





〔式中、 $R^X$ および $R^Y$ の一方は式(7)で示される基、他方は水素原子である。〕

17. 式(1)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,3糖鎖アスパラギン誘導体の保護基を除去することを特徴とする式(8)で表される11~7糖を有する $\alpha$

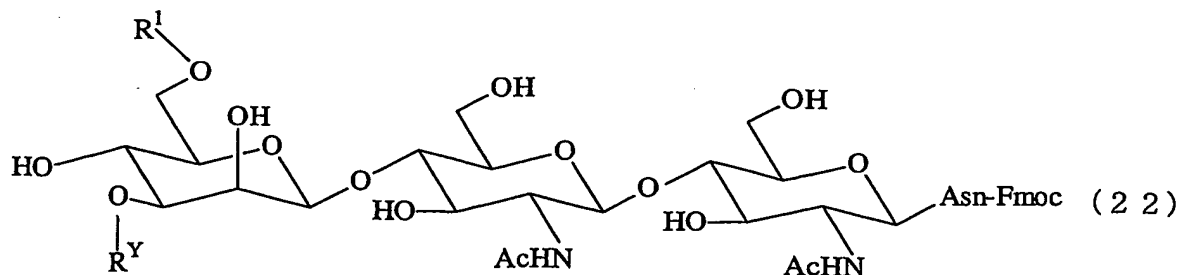
5 2,3糖鎖アスパラギンの製造法。

18. 式(6)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖アスパラギン誘導体の保護基を除去することを特徴とする式(9)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖アスパラギンの製造法。

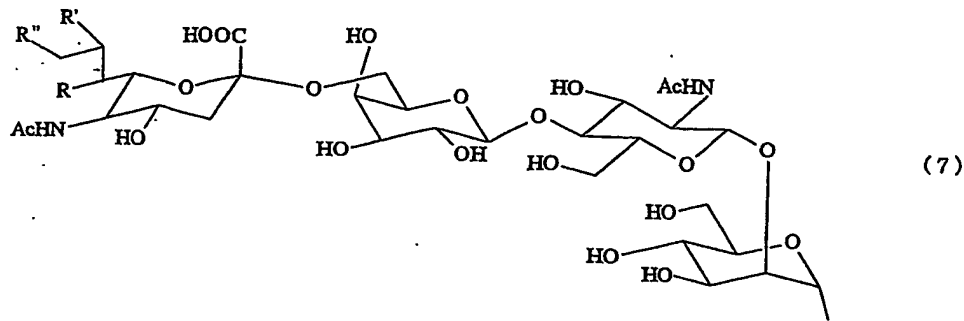
19. 式(8)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,3糖鎖アスパラギンのアスパラギン残基を除去することを特徴とする式(10)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,3糖鎖の製造法。

20. 式(9)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖アスパラギンのアスパラギン残基を除去することを特徴とする式(11)で表される11~7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖の製造法。

15 21. (補正後) 下記式(22)で表されるフッ素を含む11糖を有する( $\alpha$ 2,3)( $\alpha$ 2,6)糖鎖アスパラギン誘導体。



〔式中、 $R^1$ は式(2)で示される基であり、 $R^Y$ は下記式(7)で示される基である。〕



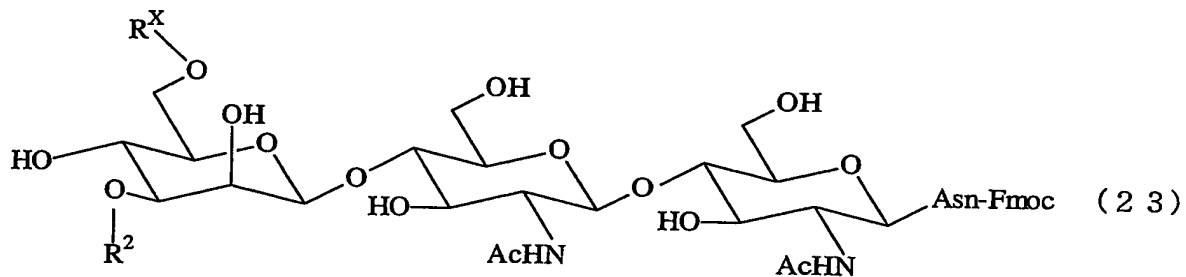
R, R', R'' は下記の組合せを示す。

(a) R=F, R' =OH, R'' =OH

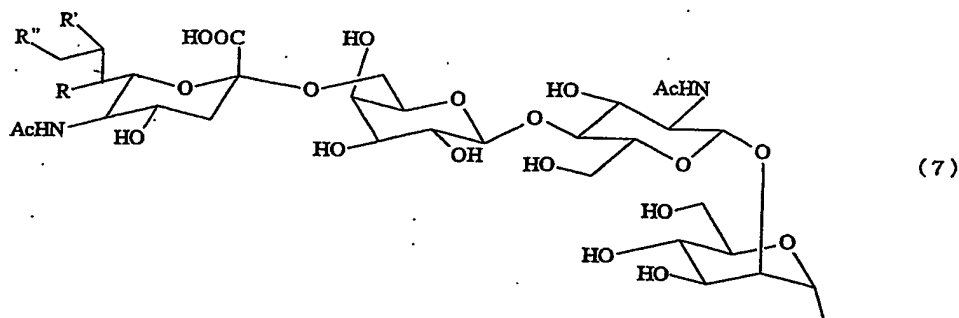
(b) R=OH, R' =F, R'' =OH

5 (c) R=OH, R' =OH, R'' =F

2 2. (補正後) 下記式 (2 3) で表される フッ素を含む 1 1 糖を有する ( $\alpha$  2, 3) ( $\alpha$  2, 6) 糖鎖アスパラギン誘導体。



[式中、R<sup>2</sup>は式 (2) で示される基であり、R<sup>x</sup>は下記式 (7) で示される基である。]



10

R, R', R'' は下記の組合せを示す。

(a) R=F, R' =OH, R'' =OH

(b) R=OH, R' =F, R'' =OH

(c)  $R=OH$ ,  $R'=OH$ ,  $R''=F$

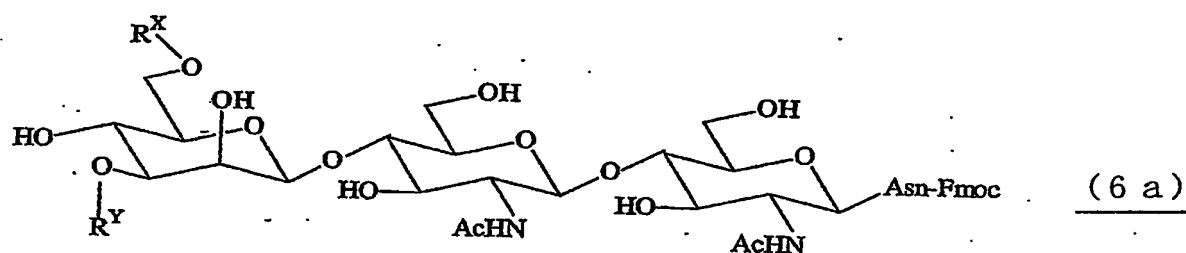
23. (削除)

24. (補正後) 式(1)で表されるフッ素を含む11～7糖を有する $\alpha$ 2,3糖鎖アスパラギン誘導体の非還元末端側のN-アセチルグルコサミンに少なくとも

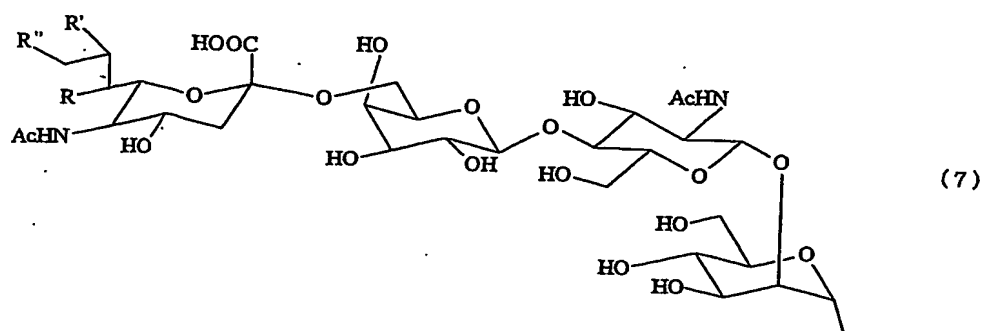
5 1個以上のフコースを含む糖鎖アスパラギン誘導体。

25. (補正後) 式(6)で表されるフッ素を含む11～7糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖アスパラギン誘導体の非還元末端側のN-アセチルグルコサミンに少なくとも  
1個以上のフコースを含む糖鎖アスパラギン誘導体。

26. (補正後) 下記式(6a)で表される11～6糖を有する $\alpha$ 2,6糖鎖ア  
 10 スパラギン誘導体の非還元末端側のN-アセチルグルコサミンに少なくとも1個以  
上のフコースを含む糖鎖アスパラギン誘導体。



[式中、 $R^X$ および $R^Y$ は、水素原子、下記式(7)で示される基、または上記式(3)～(5)で示される基である。ただし、 $R^X$ および $R^Y$ の一方は必ず式(7)あるいは式(3)で示される基である。]



ただし、 $R = OH$ 、 $R' = OH$ 、 $R'' = OH$ である。

27. (補正後) 脂溶性の保護基でアスパラギンのアミノ基窒素が保護された、式(1)で表されるフッ素を含む糖鎖アスパラギンにフコース転移酵素を用いてフコースを転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする脂溶性の保護基でアスパラギンのアミノ基窒素が保護された糖鎖アスパラギンの非還元末端側のN-アセチルグルコサミンに少なくとも1個以上のフコースを含む糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
28. (追加) 脂溶性の保護基でアスパラギンのアミノ基窒素が保護された、式(6)で表されるフッ素を含む糖鎖アスパラギンにフコース転移酵素を用いてフコースを転移させ、得られた脂溶性の保護基で保護された糖鎖アスパラギンをクロマトグラフィーに供することにより分離することを特徴とする脂溶性の保護基でアスパラギンのアミノ基窒素が保護された糖鎖アスパラギンの非還元末端側のN-アセチルグルコサミンに少なくとも1個以上のフコースを含む糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。